临 床 微 生 物 学 教 育 丛 书

CLINICAL MICROBIOLOGY EDUCATIONAL SERIES

主编

倪语星 王金良

徐英春 胡必杰

主审

司徒永康

审阅

梁皓钧 任永昌

PROPER SPECIMENS COLLECTION

病原学检查标本采集、运送和保存规范



GOOD LABORATORY PRACTICES

6

上海科学技术出版社



责任编辑 侯培东
封面设计 房惠平

6 病原学检查标本采集、运送和保存规范

临床微生物学教育丛书





www.ewen.cc
www.sstp.cn

临 床 微 生 物 学 教 育 丛 书

CLINICAL MICROBIOLOGY EDUCATIONAL SERIES

主编

倪语星 王金良

徐英春 胡必杰

主审

司徒永康

审阅

梁皓钧 任永昌

PROPER SPECIMENS COLLECTION

病原学检查标本采集、运送和保存规范



GOOD LABORATORY PRACTICES

上海科学技术出版社

图书在版编目（CIP）数据

病原学检查标本采集、运送和保存规范／倪语星等主编.—上海：上海科学技术出版社，2006.5
（临床微生物学教育丛书）
ISBN 7-5323-8383-0

Ⅰ.病… Ⅱ.倪… Ⅲ.①病原微生物—标本—采集—规范②病原微生物—标本—贮运—规范
Ⅳ.R37-65

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2006）第 014207 号

上海世纪出版股份有限公司
上 海 科 学 技 术 出 版 社 出版、发行
（上海钦州南路 71 号 邮政编码 200235）
新华书店上海发行所经销
上海市美术印刷厂印刷
开本 787×1092 1/16 印张 3.25
字数 32 000
2006 年 5 月第 1 版
2006 年 5 月第 1 次印刷
定价 12.00 元

内容提要

本书借鉴国际上最新的观念、方法，并结合我国的实际情况，主要介绍病原学检查标本的生物安全，标本的采集和选择，病毒、立克次体、衣原体、支原体的转运，标本的运送，标本的接收和拒收原则，标本优先处理的原则，以及各类标本的处理。其目的在于建立一整套适合我国情况、具有可操作性的标准化操作规范。

本书可为广大临床微生物学工作者及临床各专业医生参考使用。

主编
倪语星　王金良　徐英春　胡必杰

作者
倪语星

主审
司徒永康

审阅
梁皓钧　任永昌

前 言

临床微生物学诊断在感染性疾病及相关疾病的诊断、治疗、预防以及研究工作中起着越来越重要的作用。它既是实验诊断的重要组成部分，又是医学领域相对独立的学科。

在我国，临床微生物学诊断这一学科的发展相对滞后，与实验诊断的其他学科相比，尚未受到应有的、足够的重视。

医学发展的现状，尤其是感染性疾病发展的形势，要求我们必须充分重视并努力加强临床微生物学诊断这一学科的发展。

其理由：

第一，新的病原体及其所致的新的感染性疾病不断出现。WHO已发布近30年来明确肯定的30余种新病原体，其数目现仍在不断增加。尤其是以疯牛病为代表的新病原体prion（国内部分专家提议译为朊粒）的确定，改变了我们对传统病原体的认识，无疑对病原体的实验诊断提出新的挑战。

第二，许多传统的老病原体出现了临床新问题，对实验诊断提出了新的要求，如霍乱弧菌O139，多种多样的致腹泻大肠埃希菌，引起中毒性休克综合征的葡萄球菌和链球菌，迅速增加的性传播性疾病病原体，基因变异的乙型、丙型肝炎病毒等，迫使实验诊断手段必须不断改进才能与之相适应。

第三，新、老病原体的耐药性明显增强，不仅带来治疗上的困难，也向实验诊断提出挑战。许多耐药细菌，如耐甲氧西林葡萄球菌（MRSA和MRCNS）、耐万古霉素肠球菌（VRE）、耐青霉素肺炎链球菌（PRSP）、低耐万古霉素金黄色葡萄球菌（VISA）、产超广谱β内酰胺酶（ESBL）、金属酶及多重

耐药的肠杆菌、非发酵菌、耐多药的结核分枝杆菌等已成为临床治疗中的棘手问题。病毒的耐药性也日趋严重。这不仅要求用正确、迅速的手段检出，而且要给临床解释性判读提供可能存在的耐药机制。

第四，临床微生物学诊断技术日新月异，明显地提高了诊断的敏感性、特异性和及时性，其突出表现是分子生物学技术的进步，微生物的基因检测手段和检验的自动化或半自动化正在改变着微生物检验的面貌。

这一切要求临床微生物学检验工作者重新学习、更新知识、改进技术、提高水平，于是“临床微生物学教育丛书”就应运而生了。

本丛书编写的指导思想及其特点是：

一、突出规范化操作这一中心。就微生物学诊断的主要领域各成一分册，如血培养操作规范、抗微生物药物敏感性试验规范、细菌性腹泻实验诊断规范等已出版。

二、重在规范常规检验技术，介绍国内外认可的、最为适用的、可靠的技术方法，同时力求反映微生物实验诊断的最新成果与信息。

三、吸取美国微生物学会(ASM)的CUMITECH先进经验，又努力结合我国的实际情况，力求兼具先进性与实用性。

四、每分册均由国内富有经验的专家编写并集体讨论，由香港专家指导审阅，由香港中文大学微生物科主任司徒永康教授主审。

为方便读者用活页夹存放本套丛书，所以在版面设计时做了适当安排。

全体编审者热切希望本丛书能为规范我国的微生物学检验技术做出努力，但规范也要随着技术发展而改变，正如CUMITECH仍在不断更新一样。我们希望本丛书在国内同仁们的实践中不断完善。我们真诚期待大家的评论与指正。

主编

目　录

要有效地利用实验室，发挥病原学诊断的作用，标本的正确选择、采集和运送十分重要。首先要做好标本的采集和处理工作，否则实验室所做的工作几乎没有什么价值。因此在检验的整个过程和各个环节中，医院各部门的人员都必须了解保证标本质量的重要性和必要性。实验室有责任提供相关信息资料和专业知识，包括详尽的安全标准、标本的选择、收集、运送、接收、填写及粘贴标签的标准，并使之编入各科室的操作手册中。本篇提供病原学检查标本的正确采集、处理规范和指南。

一、标本的采集

（一）生物安全

生物安全的问题极其重要，必须受到重视。有些工作人员可能并不清楚运往实验室的标本中有潜在的病原体，所以要制定安全规章制度以保护实验室人员和其他可能接触到病原体的人员。多数微生物实验室的手册中包含实验室生物安全的内容，实验室操作手册中还应该包括有关标本管理安全操作的内容，而且每个实验室都应该备有生物安全的专业参考资料。这些参考资料应该包括微生物实验室生物安全的等级和分级管理要求，并制订如何处理和丢弃感染性材料的严格措施。

直接与标本管理有关的安全措施为：

1. 标本收集过程中必须戴手套、穿工作服，必要时戴面罩或护目镜。

2. 标本的容器必须防漏。标本集中运送时应将盛有液体标本的试管竖立插入试管架，再将试管架放入一个有盖并有标记的专用塑料运送箱中。少量标本单独运送时应将试管放入密封的、防漏的塑料袋中并做好标记。

3. 严禁将针头暴露的注射器送到实验室。应将注射器中的标本注入无菌密封的试管中，或将针头用无菌塞子堵住，放在一个密封的、防漏的塑料袋中。

4. 严禁将渗漏的标本容器送往实验室或者进行处理。应该及时向医生通报容器渗漏，并解释如果继续处理可能会出现的安全问题，要求重新采集标本，将渗漏的容器消毒后丢弃。

（二）标本的选择和采集

采集标本时必须选择能代表病情发展过程的标本的种类和采集部位，否

则就没有临床意义。一些常见的易被污染的标本和部位包括：①尿液，容易被前尿道或会阴部微生物污染。②血液，常被静脉穿刺部位的共生菌污染。③子宫内膜，可能被无关的阴道杂菌污染。④瘘道，可能存在来自胃肠道的微生物。⑤中耳，在使用耳刷采集标本时可能被外耳道的细菌污染。⑥鼻窦，可能存在鼻咽部的细菌。⑦皮下感染和表浅的伤口，易被皮肤和黏膜上的细菌污染。

普通标本选择与采集的基本原则为：

1. 避免常居菌群随时可能造成的污染，以确保采集的标本能代表感染过程。许多感染部位内的病原菌可能在健康人体内属于正常菌群。这些（来自皮肤、黏膜或呼吸道）正常菌群可能会干扰正确的检验结果，由于正常菌群的过度生长也会掩盖真实的病因。

2. 选择正确的解剖部位，并以适当的技术、方法和设备采集标本（表1）。

3. 厌氧培养标本必须选择适当的部位（表1），首选组织活检或用注射器吸取穿刺液标本，拭子是不好的厌氧培养标本。不要将标本冷藏，而应该将标本放在室温环境中。

4. 采集足量的标本，样本量不足也可能会产生假阴性结果。

5. 每份标本都应贴上标签，要标明病房、病人姓名、住院/门诊号、标本来源、采集部位、采集日期（时间）和采集者姓名等。

6. 将标本放在有利于可疑病原菌存活的特制的容器内，防止渗漏，无安全隐患。

表1　适用于厌氧培养的各种临床材料

可接收标本	不可接收标本
抽吸物（用注射器或采集针）	拭子
前庭大腺标本	宫颈分泌物
胆汁、血、骨髓、窦内吸出物	前列腺液和精液
支气管镜采集的标本（保护性毛刷）	未防污染的支气管灌洗液、气管切开吸取物
输卵管穿刺或后穹窿穿刺标本	子宫颈、阴道或外阴拭子
卵巢、胎盘（经剖宫产术取得）、子宫内膜抽吸物	恶露、污染的子宫颈内拭子
粪便（检测艰难梭菌）	粪便或直肠拭子
气管穿刺吸取物	痰（自行咳出或诱导）、鼻咽拭子
耻骨上方穿刺尿	中段尿、膀胱尿或导管尿

（三）病毒、立克次体、衣原体及支原体标本的转运

用于运送细菌的方法和转运培养基并不适合于病毒和衣原体的转运。病毒转运培养基(viral transport media, VTM)要求防止干燥，在转运过程中能保持病毒的活性，同时防止污染杂菌的过度繁殖。

液体运送系统的缓冲液中往往含有牛血清蛋白(bovine serum protein, BSA)、凝胶或胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)，并加入对病毒没有抑制作用的抗生素。用于病毒检验的组织标本也应该置于这种培养基中。含蔗糖的液体运送系统(如2-SP)可用于运送病毒和衣原体，因为其所用的抗菌剂对衣原体没有抑制作用。

用含有新生儿阴茎包皮成纤维细胞的转运系统(有商品供应)有助于巨细胞病毒和单纯疱疹病毒的检测。这种培养基用于仅能在成纤维细胞中生长的病毒的运送。

不含钠的谷氨酸盐缓冲液可促进立克次体繁殖。含有BSA的蔗糖-磷酸盐-谷氨酸盐运送培养基常用来运送立克次体、支原体和衣原体。此外，探针标记、扩增系统、酶免疫检测(EIA)抗原探测系统的供应商通常会建议或提供适合自己产品的运送培养基和专用拭子，用于收集和运送标本。

（四）标本的运送

1. 所有的标本都必须立即送往实验室，最好在2 h内。如果不能及时运送，应将标本按表2中规定的条件存放。

2. 细菌学检验标本的存放一般不能超过24 h，而病毒检测标本在4℃条件下可存放2～3 d。

3. 最佳的临床标本送检(包括厌氧菌培养标本)首先取决于所获取标本的量。量少的标本应在采集后15～30 min内送检。活检组织如果采用厌氧运送方式，可于25℃存放20～24 h。

4. 对环境敏感的微生物如志贺菌、淋病奈瑟菌、脑膜炎奈瑟菌和流感嗜血杆菌(对低温敏感)应立即处理，禁止冷藏脊髓液和生殖道、眼部、内耳道标本。

5. 从病房或实验室将临床标本或有传染性的物质运往另一个实验室，不论距离长短，都要求严格注意标本的包装和标签说明。所要运送的标本必须正确标记、包装和保护；运送工具上也应

该标明运送生物材料。送检途中要注意安全防护。

表 2　各种运送系统的保存条件和可疑的病原菌

防腐剂/运送系统	4℃保存	25℃保存
无防腐剂	活检组织、气管冲洗物、导尿管、静脉导管、脑脊液、肺活检、心包积液、痰、尿液（各种来源）	脑脊液（检测细菌）、关节滑液
厌氧运送		腹水、羊水、厌氧培养物、吸取物、胆汁、盲肠、深部病变、子宫内避孕装置（分离放线菌用）、肺内吸取物、胎盘（取自剖腹产术）、窦内吸取物、组织（外科）、气管内吸取物、尿液（经耻骨上穿刺吸取）
直接接种于培养基		角膜碎片、血培养、培养皿、玻璃体液
厌氧运送培养基	烧伤伤口组织、弯曲菌、外耳、志贺菌、弧菌、耶尔森菌	骨髓、子宫颈、结膜、棒状杆菌、内耳、生殖道培养、鼻咽部、奈瑟菌、沙门菌、上呼吸道培养

（五）标本的接收和拒收原则

应该重视标本的质量，对不规范采集、保存和运送的标本要采取纠正措施。如果检测失控的标本，那么得出的结果会给医生提供错误的信息，导致误诊和治疗不当。因此，实验室必须制订并严格执行严格标本接收和拒收准则。

实验室为保证标本质量而制订的标本拒收制度为：

1. 无标签　不检测，并与送检的医生和护士联系。对于非侵害性方式获取的标本（尿、痰、咽拭子标本），要求重新采集送检。如果是侵入性采集标本（如穿刺液、体液或组织标本），只有在与采集此标本的医生商量之后方可接收检测，并要在报告上注明此问题，将其记录存档。

2. 送检延误　不接收，提醒送检者，要求重新采集。在报告单上注明“送检延误”。

3. 送检容器不当或渗漏　不接收，告知送检者，要求重新采集，在报告单上注明出现的问题及采取的更正措施。

4. 标本不符合要求（如厌氧培养标本却按需氧培养标本送检）　不接收，联系送检者，阐明试验要求，指出不符

合要求之处,要求重新采集符合试验要求的标本。

5. 同一天内收到同一检测目的的相同标本(血液标本除外) 不检测,将标本正确保存于适当温度。与送检者联系并说明标本重复不予处理,并在报告单上注明。

6. 例外的情况 就是即使得到的标本质量不好也必须做检测,如情况特殊或取材困难等。在一些情况下,由于标本的临床意义值得怀疑而不必进行检测。表 3 列举了一些不能为临床提供有价值信息的标本,应该取消检测。

无菌体液标本可能来自严重的或危及生命的病人,必须迅速、正确地处理。体液标本是否需要离心,是直接接种琼脂平皿还是需要接种血液培养瓶增菌,都应写入实验室规程,并根据规程操作。表4列举了一些处理无菌体液的建议。

表 3 临床意义可疑而不应检测的标本

标本类型	处理意见
烧伤创面及创伤伤口(拭子)	建议重送组织标本或抽吸物
结肠造口分泌物	不予采用
褥疮(拭子)	建议重送组织标本或抽吸物
Foley 导尿管前段	不予采用
坏疽病灶部位拭子	建议重送组织标本或抽吸物
新生儿胃吸取物	不予采用
恶露	不予采用
齿周病灶(拭子)	建议重送组织标本或抽吸物
直肠周围脓肿(拭子)	建议重送组织标本或抽吸物
溃疡(拭子)	建议重送组织标本或抽吸物
呕吐物(除霍乱检验外)	不予采用

表 4 无菌体液标本的处理

体液	采集容器	浓集	染色	注释评估
羊水	厌氧管	不必	革兰染色	
后穹窿穿刺液	厌氧管	不必	革兰染色	
透析液	分离管或 Bx2	离心或过滤	革兰染色或吖啶橙染色(检出率低)	白细胞<100 个为正常
心包液	血培养瓶和	离心	取浓集液革兰	白细胞<300 个/ml

（续表）

体液	采集容器	浓集	染色	注释评估
	（或）厌氧管		染色	为正常
腹水	Bx2（10 ml）+厌氧管	离心	革兰染色	白细胞<300个/ml为正常
胸腔积液（渗出液、漏出液、胸腔穿刺液、积脓）	厌氧管	离心	革兰染色	做真菌学检验需>5 ml，少或无白细胞为正常，积脓可有大量白细胞
滑液	Bx2+厌氧管	离心	革兰染色	少量白细胞为正常

注：Bx2，需氧和厌氧血培养瓶。

（六）标本优先处理的原则

送到实验室的标本应尽可能马上进行处理。为了加速标本处理的过程，实验室应制订一套区分标本处理优先次序的方法。总的来讲，标本可归为3类：紧急、常规和选择性。

1. 紧急标本　需紧急处理的标本常提示疾病可能危及生命，需要立刻处理（无论病人在医院何处），以使初步信息能在标本到达30 min到1 h内及时告知临床医生。需要紧急优先处理的标本如下（表5）。

表5　需要紧急优先处理的标本

标　本	来　源
血液	无论来源何处
脑脊液	无论来源何处
经气管吸取物	无论来源何处
眼部标本（如眼内炎）	无论来源何处
心包积液	无论来源何处
羊水	无论来源何处
下呼吸道标本	来自ICU
外科标本	来自ICU
关节液	如果诊断为化脓性关节炎

注：ICU，重症监护病房。

其他含苛养菌或类似淋病奈瑟菌

的标本均应快速检测。

2. 常规标本　常规性标本常来自短期内无生命危险的病人，但是这些标本可能提示有严重的感染，需要确诊或采取治疗、预防性措施。这些标本如下（表6）。

表6　常规标本

标本	来源
咽喉标本	无论有否诊断或来源何处
烧伤	无论有否诊断或来源何处
眼部标本	无论有否诊断或来源何处
取自导尿管的尿液	如果诊断为泌尿道感染
各种方式取得的尿液	来自ICU
女性生殖道标本	产科或妇科或外科，如果诊断为败血症或败血性流产
外科标本	来自手术室
下呼吸道标本	如诊断为肺炎
腹水	如诊断为腹膜炎

3. 选择性标本　除了上述紧急性和常规性标本之外的便是选择性标本。选择性标本同其他标本一样，需经过熟练和正确的处理，只是在处理的时间上有轻重缓急之分。

建立处理、报告紧急标本的制度不仅对危重病人很重要，也是美国临床实验室修正法案（CLIA 98）所明确要求的。微生物实验室必须规定哪些标本是紧急的，需要优先处理。为满足医生迅速了解某一病人的情况，报告单上必须留出空间，以便让医生注明标本结果是否需要立刻知道（在1 h内或更短的时间内）。同样，临床医生也应该知道实验室有责任在短期内告知他们哪些标本的紧急检验结果。

对一份需要紧急处理的标本，必须进行快速和精确的检测，并且应该将初步结果电话告知临床医生，与医生联系的情况也应该在报告单上注明。在电话号码薄或计算机标本记录或其他地方注明结果已被电话通知，包括日期、告知的医生、通知的信息及打电话的实验室人员姓名。

要点：

1. 病原学检查标本的选择和采集原则是：①避免正常菌群的污染。②选择合适的解剖部位，并以正确的方法和设备采集标本。③采集足够数量的标本。④每个标本都要有明确的标记，标明病人的姓名、住院号、来源、采集部位、采集日期（时间）和最初的采集者。⑤标本必须放在合适的无菌容器内，防止渗漏。

2. 标本的运送必须及时，如果不能及时运送，应该适当保存。用于运送的材料应正确包装和保护，并有明确标记。

3. 临床微生物实验室必须制订一套严格的标本接收和拒收标准，对不符合要求的标本要坚决退回，以免浪费资源和误导临床，或产生安全问题。

4. 临床微生物实验室必须规定哪些标本是紧急的，需要优先处理。对需要紧急处理的标本必须进行快速和精确的检测，并在最短的时间内将初步结果电话告知临床医生。

二、标本的采集方法和处理原则

（一）血液标本

血液是实验室所接收的最重要的标本之一。送检血液标本有助于识别由细菌、真菌引起的菌血症、脓毒症、心内膜炎和人工瓣膜感染、化脓性血栓性静脉炎以及其他感染或导管相关的感染。因为血源性感染与多种微生物有关，所以用于血培养的培养基应该能支持各种细菌的生长。

【采集方法】

（1）采血的部位和次数　对于成年病人，每次发热时应该分别在2个部位采集血标本，以帮助区分是病原菌还是污染菌，特别是对于凝固酶阴性的葡萄球菌、棒状杆菌、绿色链球菌及布鲁菌，要考虑其污染的可能性。一般来说，单一采集的血培养标本更可能被污染，而要检出具有代表性的病原体则往往要在2个以上部位采集2份以上的血液进行培养。在24 h内采血部位不得多于4个以上，此限制考虑到一天中每次发热时只采集2个部位的血做2份血培养就可评价2次发热，做再多的血培养没有必要。根据几份研究资料表明，95%以上的菌血症都是在前两三份血培养中检测出来的。

（2）采血的时机和采血量　采集血标本应该在使用抗生素之前，尽管有些培养基含有消除抗生素影响的物质。理论上说，采血时机应恰好在发热高峰之前，但实际上应该是在发热高峰后立即采血。采血的总量也是影响检出病原体的重要因素之一。在一项研究中增加血培养的血量从40 ml到60 ml，可提高检出率10%。对于成人，每次穿刺应采血20～30 ml。对于儿童，采血量就要求少一些，因为其每毫升中的细菌要多

些。血与肉汤的比例以1:(5~10)更有利于检出细菌，这或许是肉汤稀释了抑菌物质的缘故。大多数商业血培养系统为了最佳检出都规定了必要的血标本量，但对于标本量不足的血培养标本不必拒收。

(3) 方法 准备无菌手套、止血带、酒精和聚维酮碘(碘伏)棉球、双针采集系统或一次性注射器，进行严格的皮肤消毒。通常通过肘静脉穿刺取血，从外周静脉导管或中心静脉导管采取血标本很可能被正常菌群污染，因此应在导管采集标本的报告单中注明。静脉穿刺采集标本的培养结果更为可靠。

去除培养瓶上的封条和瓶帽，用酒精棉球消毒橡皮塞，待干。用止血钳夹紧采血皮管，并将一头的一个针头扎进需氧瓶中。

消毒静脉穿刺部位皮肤，选择静脉和穿刺点，用酒精棉球从中心向外消毒皮肤，再用聚维酮碘按同样方法消毒，待干(30 s~1 min)，再用酒精棉球擦去碘迹。

以双针采血皮管另一端的一个针头穿刺静脉。松开夹在采血皮管上的止血钳，使血液流入瓶中(50 ml瓶中放入5 ml，100 ml瓶中放入10 ml)。不同的血培养仪器有不同的采血量要求，应参照其说明。

再次夹紧止血钳，将针头从需氧瓶拔出插进厌氧瓶。松开止血钳，使血液流入厌氧血培养瓶中(采血量同需氧瓶)。

重新夹紧止血钳。用无菌纱布压迫穿刺点，拔出针头，嘱病人用纱布压紧穿刺点2~3 min。将针头从厌氧瓶拔出，丢弃采集设备(不可再次使用)。清除任何溅在血培养瓶上的血液，做好标记(病人信息、采集时间和部位、注明使用抗生素的情况和临床诊断)，迅速送往实验室。如在夜间采集，应将标本保持在室温或35℃，禁止冷藏。

婴幼儿采集方法与成人相同，但抽血量只需0.5~2 ml，用儿童专用血培养瓶，只需做需氧培养。

采集血液标本的临床条件和原则见表7。

【处理原则】

(1) 培养条件 所有的血培养温度都应在35℃。手工血培养系统应该培养7 d，阴性需氧培养瓶要在最后一天做盲目传代培养。对于自动化系统，培养5 d就足以检出绝大多数细菌，不必转种做盲目传代培养。当出现阳性瓶需

表7　采集血液标本的临床条件和原则

临床条件	原　则	备　注
成人或青少年严重的败血症、脑膜炎、骨髓炎、关节炎、肺炎	治疗前做2次血培养	从2个手臂各取10～20ml的2份样品
亚急性细菌性心内膜炎	24h内做3次血培养	间隔采集：在第一次发热高峰时期采集2次血标本；24h后可再采集培养
急性细菌性心内膜炎	治疗前1～2h内做3次血培养	
轻度血管内感染	24h内做3次血培养	间隔采集，间隔时间≥1h；首次发热发作需采集2次血标本
不明原因的菌血症(处于治疗中)	48h内做4～6次血培养	在服用抗生素之前采集标本
发热发作期	不超过3次培养	菌血症可能已在发热前1h发生
婴幼儿	1～2ml血标本	新生儿诊断菌血症只需2次培养即可

要转种时，所选择的需氧培养基要根据革兰染色涂片的镜下结果。如果革兰染色镜下所见细菌形态提示可能为厌氧菌或者只从厌氧血培养瓶中检出细菌，转种时就要选择厌氧培养基及厌氧条件。

（2）初步处理　血培养标本的初步处理需要视所用的培养系统而定。送检的血培养瓶应放于室温待处理。对于一些连续监测系统，培养瓶需要用针通气或将附件插在瓶顶用于压力测定等。

（3）直接法　不推荐血标本直接做革兰染色，因为通常血流中的细菌太少。一旦检测到有细菌生长，就应该取培养瓶的肉汤或培养瓶固相琼脂的细菌做革兰染色。革兰染色报告应该详尽描述，以便于选择适当的抗生素。例如，革兰阳性球菌的排列状况应该作出描述，如成对、成团簇状或成链状排列；而革兰阴性杆菌需描述形态，如细小或球杆状等。

【需要特殊考虑的问题】

（1）骨髓标本　接种于血培养瓶中（如量很少可直接接种于琼脂培养基），与实验室联系（建议溶解离心）。申请单上应附注可疑的临床初步诊断。

（2）中心静脉留置导管　消毒，拔去导管盖，消毒针芯。先插入无菌注射器抽吸至少0.5～1.0ml血液并弃去，

以消除干扰因素及导管末端的污染。另取一无菌注射器抽吸 0.5 ml 用于培养。然后在导管内注入肝素或生理盐水。

（3）小儿　由于小儿的不依从性及适合穿刺的静脉很少而使静脉采血困难，不可能采集与成人相同的量。因此对小儿来讲，虽然要求至少抽取 0.5 ml 血液，但在一定条件下即使是 0.1 ml 的血液也被注于儿童专用的血培养瓶中。皮肤消毒至关重要，穿刺前允许消毒剂待干 1 min。一般不需做厌氧培养，除非临床考虑确实有厌氧菌血症的危险。

（4）有文献提出厌氧血培养的阳性率不高，而做 2 个需氧培养瓶则因为血液量的增加可能会更有价值。采集 20 ~ 30 ml 血液量可能是最理想的。此外，酵母菌感染率逐渐增高，应该引起重视。

（5）特殊的病原菌

1）厌氧菌　血液检出厌氧菌的机会很少。在过去几年中，一些研究表明血液中厌氧菌的感染呈下降趋势，但是并非所有医院都如此。因此，实验室应该回顾自己的数据，以决定是否将厌氧菌的血培养作为常规检查项目。手工血培养瓶/系统不宜用于培养厌氧菌。

2）苛养菌　有些能引起血液感染的细菌用常规的血培养方法不能检出。如布鲁菌可生长在常规培养基中，虽然这些菌最少能在 3 d 内检出，但是还是建议培养保持 21 d，而且在某些情况下最后还是需要转种做次代培养。HACEK 菌群[嗜沫嗜血杆菌（*Haemophilus aphrophilis*）、伴放线杆菌（*Actinobacillus actinomycetem comitans*）、人类心杆菌（*Cardiobacterium hominis*）、腐蚀埃肯菌（*Eikenella corrodens*）、金氏金杆菌（*Kingella kingae*）]与细菌性心内膜炎有关，也可从常规培养基中培养出，但是需要培养至 14 d，并且最后需要转种培养。当临床病史提示有弗朗西斯菌感染，阳性培养瓶还需要再另外转种一份到缓冲-活性炭-酵母粉（BCYE）琼脂，而且所有操作都要在三级层流生物安全柜中按安全规定进行。钩端螺旋体不能在常规培养基中检出。在钩端螺旋体感染发病的第1周采集 1 ~ 2 滴血，应该接种在半固体培养基，如 Fletcher's Ellinghausen-McCullough/Johmson-Harris，或 Polysorbate 80 培养基，应于室温下培养至 6 周。

在血液中要发现Bartonella henselae（一种巴尔通体）很困难，但是在某些培养系统则可以培养出来。用Isolator系统时应将处理过的血标本接种在营养加强的血琼脂或巧克力琼脂上（35℃），在提高CO_2含量及湿润环境下培养至4周。采用Septi-Chek系统时，Bartonella henselae可以生长，但是要培养到40 d。采用只有肉汤的血培养系统培养这种病原体时，可将肉汤涂片，用吖啶橙染色可以观察得到菌体。而这种病原体不会使肉汤混浊，产生的CO_2也很少，不足以能够被仪器设备检测出来。

3）分枝杆菌　在过去几年中，分枝杆菌在艾滋病病人中越来越多地出现感染流行。这些细菌一般不会在血培养中检出。

4）导管头标本　导管头的培养是为了确定菌血症的感染源。最常用的方法为半定量法，此法是用5 cm长的导管远端部分在血琼脂平板上反复涂抹4遍。经培养产生的菌落数>15个才有意义，才能认为存在导管感染的可能性。

要点：

理想血培养要求：①在发热高峰前1 h内或发热开始时采集血液最理想。在使用抗生素前采集血液。②发病24 h采集2～3次对诊断菌血症或心内膜炎已足够。样品量至少要有10 ml，并分装于2个瓶中（需氧+厌氧）。③除非无法做静脉穿刺取血，否则不应从留置静脉或动脉导管内取血，因为导管易被正常菌群污染。尽可能在静脉穿刺点以下取血，以避免血液被输液稀释。

（二）脑脊液标本

脑脊液标本用于诊断脑膜炎。细菌性脑膜炎又分为急性和慢性。除流行性脑膜炎由脑膜炎奈瑟菌引起之外，急性化脓性脑膜炎在症状发作的前24 h内通常由化脓性细菌引起。可能引起感染的病原体随病人的年龄以及院外感染还是院内感染而不同。慢性脑膜炎症状至少持续4周，病原体包括有结核分枝杆菌、梅毒螺旋体、布鲁菌、问号钩端螺旋体以及博氏疏螺旋体。

【病人准备和标本选择】 病人应先禁食，采取严格的无菌操作，在第3和第4腰椎间隙或稍低处穿刺，防止损伤脊髓。小儿则于第4和第5腰椎间隙穿刺。

若仅收集到1管脑脊液，应首先送往微生物实验室。如果多于1管（每管1 ml），微生物实验室应接收被血污染较少的脑脊液（如第2或第3管等）。

【准备材料】 腰椎穿刺手术包（包括托盘、无菌手术巾、0.5%～1%普鲁卡因、注射器及针头、2个腰穿针及针头、液体压力计、3个有螺旋帽的无菌试管）和皮肤消毒剂。

【采集方法】 嘱病人屈曲双膝，头向前胸部屈曲，近贴膝盖。消毒两髂后上棘连线与脊柱相交处周围皮肤，进针。如见到液体流出，说明针头已到达蛛网膜下腔，测定压力。采集1 ml置于无菌螺旋帽试管中，标记病人信息（病人姓名、年龄和标本采集时的诊断、治疗情况）。

【运送】 禁止冷藏，手持标本，立即送往实验室。

【处理原则】 如果采集的脑脊液多于1 ml，应该至少用1 500 *g* 离心15 min。上清液倾入无菌试管中，留取0.5 ml的沉淀和液体，充分混匀，涂片镜检和接种平板培养基进行培养。

所有的脑脊液标本都要做革兰染色。镜下所见包括微生物及细胞成分的描述和计数都要立即报告给申请医生。快速诊断方法包括检测标本中细菌如B群链球菌、肺炎链球菌、脑膜炎奈瑟菌、大肠埃希菌等的抗原。从离心的上清液或原始标本中可检测到流感嗜血杆菌b型的抗原。

脑脊液的培养应该考虑到所用的培养基以及培养条件要适合苛养菌的培养。

【需要特殊考虑的问题】

（1）儿童

1）儿童中枢神经系统感染症状可能并不表现出来，因此儿童脑脊液检查更为常用。由于不依从性，儿童腰椎穿刺更为困难，同时可采集的量也有限。对于成人，如穿刺成功，血迹会逐渐减少；如果肉眼可见血液或凝块，则说明穿刺针位置不正确，应重新穿刺。但是病情严重的患儿不允许立即重做，而有必要先将混有血迹的脑脊液送往实验室培养，培养前应摇匀血块。

2）某些患儿因有各种脑室旁路，需引流过多的脑脊液，因此有必要注明“脑室旁路引流液”而不是“脑脊液”。那

些经腰椎穿刺获得的脑脊液中可能被认为是污染的细菌，在脑室旁路感染中也许是重要的病原菌。

（2）特殊病原菌

1）厌氧菌　厌氧菌几乎不引起脑膜炎；常规不要求做脑脊液厌氧菌培养，但脑脓肿、硬膜下积脓及硬膜外脓肿要做厌氧菌培养。

2）分枝杆菌　除了对来自源于艾滋病病人的脑脊液要做分枝杆菌的检测外，对脑脊液做分枝杆菌检测只考虑以下情况：脑脊液（淋巴）细胞增多，葡萄糖值或蛋白质的值异常。因为分枝杆菌在脑脊液中的量少，所以做培养的标本量要多一点（以3~5 ml为好）。脑脊液标本要3 000~3 600 *g*离心30 min，弃上清液，将沉淀用旋涡振荡器充分混匀，制备涂片用于抗酸（AFB）染色并接种于适当的培养基，包括液体培养基。培养至少6周。

3）钩端螺旋体　钩端螺旋体可以从发病前10 d的脑脊液中发现。采集标本应该在抗生素使用之前和病人在发热时采集。直接检测钩端螺旋体时，脑脊液标本要以1 500 *g*离心30 min，并取沉淀涂湿片在暗视野显微镜下观察。钩端螺旋体可在半固体培养基上培养，如Fletcher培养基、Ellinghausen-McCullough/Johnson-Harris培养基或Polysorbate 80培养基培养检出。离心沉淀标本建议接种0.5 ml。室温下培养至6周。

（三）其他无菌体液标本

1. 腹腔穿刺液、腹水

【病人准备和标本选择】　选择疑有腹水的病人（往往有腹胀、体重增加和排尿困难，超声检查显示腹腔内有积液），在超声波引导下经腹腔穿刺吸出液体。

【准备材料】　准备皮肤消毒剂、腹腔穿刺手术包（套管针和套管或透析导管和长针、解剖刀、局部麻醉药、无菌标本容器、缝合工具）。

【采集方法】　病人取坐位，常规消毒穿刺或切开部位的皮肤。穿刺点取腹中线脐下3~5 cm处，在超声波引导下将透析导管探入直肠子宫陷凹。如果抽吸物出现肉眼可见的血液或肠内容物，需立即进行剖腹探查；如果没有，则用1L生理盐水或平衡盐溶液冲洗。如果病人条件许可，可以进行引流放液，腹水往往稠厚且流动缓慢，可引流

数百毫升。

【标记】 标记病人信息，包括采集时间和诊断信息。

【运送】 禁止冷藏，采集后应该直接将标本送往实验室。

【处理原则】 无菌体液标本应直接接种于血培养瓶或者在床旁收集于无菌、厌氧容器中并立即送到实验室。

1 ml 以上的标本应该至少以 1 500 *g* 离心 15 min。弃掉上清液，留取约 0.5 ml 沉淀，混匀，涂片做革兰染色并接种于培养基中。如果要采用细胞离心做涂片，在此之前大约要留取 0.5 ml 标本做细胞离心。未离心标本也可在实验室直接接种于血培养瓶中，留取少量(0.5 ~ 1.0 ml)做革兰染色。选择用于培养体液的固体培养基要有利于培养苛养菌。只有在培养非卧床慢性病人的腹膜透析液时才有必要接种液体培养基，其腹膜透析液中的细菌很少，只有约 1 CFU/ml。是否需要其他体液接种于液体培养基应该由各实验室自已决定。培养应该在有 CO_2 的环境中35℃培养。

【需要特殊考虑的问题】 用于检验分枝杆菌的体液标本的处理不同于检验其他细菌，要为 3 000 ~ 3 600 *g* 离心 30 min。弃掉上清液，沉淀用于涂片做抗酸染色并接种于相应的培养基。培养条件：35℃、8%CO_2，培养至少 6 周。

体液标本可以用含有抗凝剂的试管送检。抗凝剂有肝素、枸橼酸盐和 EDTA，但抗凝剂对有些细菌有抑制作用，所以最好还是不用。如果要采用抗凝剂，就必须要向申请检验的医生说明其对结果的影响。

2. 胸腔穿刺液

【病人准备和标本选择】 术前告知病人胸腔穿刺引流可能导致疼痛、呼吸困难及其他压迫症状。漏出液可能出现于心脏(充血性心力衰竭)、肾脏或血管疾患，而渗出液可能与炎症(如肺炎和肺结核脓肿等)有关。积液也可能由肺部感染引起。

【准备材料】 准备胸腔穿刺手术包(无菌手术巾、0.5% ~ 1%普鲁卡因、注射器、不同口径穿刺针头和空芯针头、塑料导管等)、负压吸引设备(真空瓶)、机械或人工抽吸器。

【采集方法】 病人半横侧卧位，手置于头上或头前，可用枕头支撑住上身，病人也可反坐在靠背椅上或靠在桌边。以 X 线和叩诊定位，消毒穿刺点皮肤，局部麻醉。嘱病人不要咳嗽。

于病人吸气时刺入以避免损伤肋间血管。收集肋膈角的积液（不会累及肺脏）。

用穿刺针引流方法采集标本（将针头连一个三通旋塞，防止进入空气，接上注射器或带真空瓶的导管，旋开旋塞引流积液，将标本直接放入带螺旋塞的培养瓶），将漏出液（蛋白浓度较高）置于专用试管用于细胞计数或鉴别。胸腔积液以抽取 10 ml 为佳。

【标记】 标记病人信息，注明液体类型及做何检查。

【运送】 禁止冷藏，直接送往实验室。

【备注】

（1）有时在重力作用下积液不能自动流出，因此有必要使用引流装置。

（2）观测是否有血痰。出现血痰常提示肺组织已损伤。

（3）小儿要求同成人。

【处理原则和需要特殊考虑的问题】 同“腹腔穿刺液、腹水”。

（四）呼吸道标本

1. 下呼吸道标本　下呼吸道标本检查主要用于确定肺炎病因。最常送检的呼吸道标本是痰，包括咳出的痰和诱导痰。其他种类的标本有气管吸出物、经气管吸出物、支气管刷取物、支气管灌洗液和支气管肺泡灌洗液。

痰　诊断细菌性肺炎时用的最多的是痰培养，但痰培养的临床意义稍差，如果从血液、灌洗液或经气管吸出物等标本获取阳性结果可能更有诊断意义。

选择来自下呼吸道的标本。如果痰中没有上皮细胞而有大量白细胞，说明标本合格（如出现上皮细胞提示可能已受到口咽部正常菌群的污染）。给病人详细介绍痰与唾液的区别，可大大减少不正确的标本采集。准备带有螺旋帽的无菌杯。清晨嘱病人深咳收集第一口痰（TB），采集前嘱病人漱口，有假牙的病人应先取下假牙。积痰不适合培养。将标本直接放入标本杯，旋紧杯盖，防止泄漏。标记病人信息，注明需做何种培养，如常规、抗酸杆菌或真菌培养。采集、运送结核分枝杆菌标本时应特别注意安全防护。标本迅速送往实验室，如 1 ~ 2 h 内不能送到实验室，需要冷藏标本。

儿童要求同成人。由于儿童常难以自行咳出痰液，故更常采用气管抽吸液

标本。

要点：

诊断细菌性下呼吸道感染，需要一份正确采集的标本。

诊断真菌或分枝杆菌疾病，应检查连续3个早晨采集的标本。

痰标本不做厌氧菌检测。

痰标本可以进行DNA探针或其他分子生物学检测。

气管吸取物　诊断肺炎应取血液或经气管吸取物做培养。检测方法同痰标本。可通过气管内插管采集标本。

准备聚乙烯导管、注射器(20 ml)或间歇抽吸装置。

将导管插入气管，用注射器或抽吸装置吸取分泌物，标记病人信息、标本的确切来源、初步诊断及病人抗生素使用情况。

禁止冷藏标本。将标本迅速送往实验室。

儿童应在吸氧后将无菌抽吸导管连于标本盛放器，引导导管沿气管插管管道进入气管直到感觉遇到阻力，将导管后撤1~2 cm然后抽吸液体。

要点：

革兰阴性杆菌很快会在气管切开部位定植，因此培养出现这些革兰阴性杆菌可能难以解释肺炎的病因。

防止生理盐水过分稀释标本。

经气管穿刺吸取物　当培养结果会影响治疗、非侵入性检测没有效果、重症(危及生命的)感染、怀疑厌氧菌感染或病人处于昏睡状态时，采用这种方法。应由临床医生操作。

准备套管针(14号)和聚乙烯导管(16号)、注射器(20 ml)或间歇抽吸装置、麻醉剂、酒精和碘酒。

麻醉、消毒穿刺部位。将针头刺进甲状软骨表面的皮肤。针头插入气管，用注射器或抽吸装置吸取分泌物。吸取尽可能多的液体；如果分泌物很少，注入2~4 ml无菌生理盐水以诱导咳嗽，可采集到足够的标本。标记病人信息和确切的来源，注明标本是否用来检测厌氧菌或不常见的病原体。

标本禁止冷藏。应用密封容器，以

防止空气进入容器破坏厌氧环境。将含有吸出物的注射器或连有导管的抽吸装置迅速送往实验室。

支气管镜采集标本

【准备材料】 准备支气管镜、2%利多卡因、林格液或生理盐水(用于气管刷标本)、标本盛放器、20 ml 注射器、一次性取样毛刷。

【采集方法、标记和运送】 病人取仰卧位。吸入麻醉并用利多卡因凝胶润滑双侧鼻孔。也可通过静脉输入镇静剂以耐受气管镜检查。用2%利多卡因凝胶润滑气管镜,避开末端塞子。经鼻插入气管镜。

(1) 气管冲洗物(对肺炎的诊断意义较少) 将标本盛放器连于气管镜上,缓慢地注入无菌生理盐水 10 ml后再吸取冲洗液。密封标本盛放器并送往实验室。

(2) 气管刷洗物(双腔管) 将毛刷插入双套管毛刷管道,将毛刷从管道中推出并采集刷取物,将刷子拉回鞘内并将整个细胞刷装置退出双腔镜管道。拿出刷子,放置于液体运送培养基(如生理盐水和林格液)中。对于分枝杆菌标本,刷洗物应置于 10 ml Middlebrook 肉汤培养基(含 1%~2%小牛血清蛋白和 0.5%吐温 80)中。标本送往实验室。

(3) 支气管肺泡灌洗液 灌洗可以冲刷出气管镜不能到达的小气道的细胞。将 70 ml 容量标本盛放器连于气管镜,缓慢地注入 100 ml 无菌生理盐水于管腔中;对于患儿,每千克体重只能注入 1~2 ml。通常患儿标本的收集量不足 10 ml。若能收集 10 ml以上的标本,则离心后可以提高培养和涂片的检出率。经过 3~4 次灌洗后,将盛放器中的标本置于无菌管中并送往实验室检查。

(4) 经气管肺组织活检(抗酸杆菌和真菌培养) 在 X 线引导下操作。将活检镊缓慢推进到管腔末端,将镊子推出管腔进入肺组织。开启监视屏幕。将活检钳移入胸膜内 2.5 cm,张开钳子并推入肺组织,然后合上钳子,采集标本。一般需采集 3 份标本。将活检钳从管腔拉出并保持闭合状态。活检组织放入含 1~2 ml 生理盐水的试管中,标记病人信息、检查方法和采集时间,禁止冷藏标本。标本应立即送往实验室,并注明要求培养的类型(如常规、抗酸杆菌或真菌培养)。

要点：

收集气管冲洗液最大的问题是麻醉液可抑制细菌，因为90%以上标本中会带有麻醉剂，从而影响检出率。

气管刷大约只能获得0.001 ml的标本，而且标本应立即置于液体培养基中，否则标本干燥会导致细菌很快死亡。

标本应由熟练的医务人员采集。

经气管镜采集的标本易被口腔细菌污染，双套管防污染毛刷可大大减少这种污染。

气管镜标本一般不用于采集厌氧菌标本，有特殊要求时请与实验室联系。

痰标本不理想时可考虑取支气管肺泡灌洗液标本。灌洗液标本定量分析比痰标本更有临床价值。

【处理原则】 下呼吸道标本应该立即送往实验室；如果不能及时送检或及时处理，应该冷藏。通常情况下，咳出的痰和气管吸出物在处理之前都要先经过显微镜筛选，以确定是下呼吸道的分泌物还是唾液。方法是取标本的脓性部分，做一张革兰染色涂片，在低倍镜下确定鳞状上皮细胞和（或）中性粒细胞的数目，以此评估标本的质量。使用显微镜判断标本质量，正确的有临床意义的标本包括少量的扁平上皮细胞和大量的多形核白细胞。

有一种简单的筛选方法，只对鳞状上皮细胞的评估，如每低倍视野中的鳞状上皮细胞＞10个时，表明该标本被唾液污染，因此不能用于培养。这个标准对中性粒细胞减少的病人很有用，因为对其标本的审查不要求有中性粒细胞。对于用咳痰检验肺炎支原体、军团菌和分枝杆菌时不一定要进行筛选。

所有合格的下呼吸道标本都应该涂片做革兰染色，在油镜下观察有关的细菌的数目，任何细胞内的细菌都应报告。对于要做培养的标本，建议选择性培养基和非选择性培养基都用，此外还要接种分离嗜血杆菌的培养基。培养条件：35℃，含5%CO_2。

【需要特殊考虑的问题】

（1）支气管肺泡灌洗液和支气管刷检标本　对于支气管肺泡灌洗液和支气管刷检标本，怀疑为呼吸机相关肺炎时，应考虑做定量培养，以便对分离

出的微生物的临床意义做出最佳评估。支气管刷检物含有0.001～0.01 ml的分泌物，将其采集后立即放入1 ml无菌盐水或肉汤中，立即送到实验室。检查时要用旋涡振荡器将其混匀，离心，涂片做革兰染色直接镜检评估，用无菌微量吸管或标定接种环取0.01 ml标本接种于适当的平板培养基上。菌落计数>1 000/ml肉汤或盐水（相当于10^6 CFU/ml原始标本），表明与感染有关。在支气管肺泡灌洗时可以采集到10～100 ml液体。取一部分标本送往实验室，做离心、涂片及革兰染色。染色报告应当描述细胞内是否有细菌。有几项研究表明，在>7%的细胞内见到细菌就认为与呼吸机相关肺炎有关。将0.001 ml的标本接种于琼脂培养基上，如果某一特殊细菌菌落计数>10 000/ml标本液体，则认为与肺炎相关。

（2）军团菌属　军团菌常引起社区获得性肺炎和医院获得性肺炎。军团菌可以通过培养诊断，或通过检测尿液中的抗原或血清学试验进行检测。培养可以检测军团菌属的所有种，不受菌种或血清型的限制。在培养之前，标本应该在肉汤培养基中稀释10倍，例如用“胰蛋白大豆胨”肉汤或无菌水稀释标本中的抑制性物质。因为军团菌生长缓慢，要从高污染的标本（如痰或气管抽吸物）中分离军团菌，最好是在接种标本之前用酸进行去污染处理。标本用1:10的氯化钾-盐酸缓冲液（pH为2.2）稀释并在室温下孵化4 min（重要的是孵化不得超过4 min，因为军团菌在酸的作用下会慢慢失去活性）。然后将标本接种到军团菌琼脂培养基（不含抗生素）上，培养于35℃、湿润环境中至少5 d。

（3）肺炎支原体　肺炎支原体是引起非典型肺炎的主要病原体。肺炎支原体为苛养性，而且生长很缓慢。决定性的诊断常是依靠血清学试验。当要求培养时，一般选择咽拭子，痰和其他呼吸道标本也可接受。标本采集后要立即放入含有蛋白质（如白蛋白）的运送培养基中，可以加青霉素用于减弱其他污染菌的生长。标本可以放在运送培养基中，于4℃保存48 h或-70℃冰冻更长时间。

（4）洋葱伯克菌　洋葱伯克菌是囊性纤维化疾病病人重要的呼吸道致病菌。此菌在常规培养基中生长良好；但是如果用选择性培养基，例如PC琼脂和OFPBL琼脂用于分离呼吸道分泌

物中的洋葱伯克菌，效果会更佳。

（5）衣原体　衣原体也是呼吸道的重要致病菌。沙眼衣原体可引起婴幼儿的各种呼吸道疾病。肺炎衣原体可在所有年龄段致病，但是大多数严重病人是幼儿和老年人。鹦鹉热衣原体是动物的病原体，偶尔也对人类致病。做支原体检验的标本应该放在一种培养基中（其中含有选择性抗生素）。为了维持支原体的活性，标本应及时送往实验室，接种于 McCoy 或绿猴细胞中。如果标本在48 h 内不能及时处理，应将标本冷藏；如果需要保存更长的时间，必须放入-70℃或更低温度。具体检验方法见有关章节。

（6）奴卡菌　奴卡菌可以是重要的呼吸道致病菌。做培养的标本要立即送往实验室，短暂耽误时可放在4℃保存。标本直接涂片革兰染色，显微镜下可见细长、念珠状、革兰阳性菌，有分支或呈丝状、球杆状。奴卡菌具有部分抗酸性，培养奴卡菌没有特别的培养基，它可生长在 HBI 沙保葡萄糖琼脂、羊血琼脂或胰-豆胨琼脂中。奴卡菌也可在分枝杆菌的去污染处理中存活下来，并在分枝杆菌培养基中生长。对于污染严重的标本，如痰标本，推荐使用选择性BCYE 琼脂。培养条件：25 ~ 37℃，最好是 37℃，培养 3 周。

（7）分枝杆菌　要分离、培养被污染的呼吸道标本中的分枝杆菌，首先必须对标本进行去污染及浓缩处理。具体的去污染方法请参见相关内容。将标本离心、涂片，做一份抗酸染色找抗酸杆菌。商品化的核酸扩增法可用于检测涂片阳性标本中的结核分枝杆菌复合物。培养时标本至少要接种于一份液体和固体培养基，35℃培养至少 6 周。

2. 上呼吸道标本

鼻咽部　鼻咽部抽吸物、灌洗液及鼻咽拭子标本有助于诊断百日咳、白喉和衣原体感染，以及识别出脑膜炎奈瑟菌或金黄色葡萄球菌的携带者。鼻咽部标本培养不用于中耳炎的诊断。但是从儿童鼻咽部分离肺炎链球菌，监测其耐药性，则具有流行病学价值。

【采集方法】

（1）鼻部标本　准备无菌拭子、运送培养基和鼻腔镜（需要时）。

拭子进入鼻腔内至少 1 cm后再采集标本。鼻内有病灶时应采集病灶边缘部分。取样时先用力旋转拭子，然后停留 10 ~ 15 s。退出拭子，放入运送培

养基中。标记病人信息，注明鼻内是否有病灶。标本禁止冷藏并尽快送往实验室。

要点：

鼻腔前部标本，如没有病灶，仅常规检测金黄色葡萄球菌和β溶血性链球菌。

鼻腔标本不能用于检测鼻窦、中耳或下呼吸道感染。

鼻腔标本不做厌氧培养。

同时采集其他部位（如直肠）标本可提高耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（MRSA）的检出率。如果这些部位连续2～3次培养阴性，提示可能不携带MRSA。

鼻咽部标本 采集时应注意避免鼻腔或口腔正常菌群的污染。可通过鼻咽拭子经鼻或喉采集鼻咽部标本。准备鼻咽拭子、运送培养基和鼻腔镜（备用）。如怀疑为百日咳，必须使用特殊的培养基如Regan-Lowe培养基，并及早提醒实验室。

清除鼻腔前部的分泌物或渗出液。需要时使用鼻腔镜。轻轻将拭子插入鼻腔到达鼻咽部，在鼻咽黏膜上轻轻旋转拭子，并停留10～15 s以吸取病原菌。小心取出拭子，放于运送培养基中，不要冷藏。也可以将拭子柄弯成一定角度插到喉部，然后将拭子向上伸到鼻咽部。

标记病人信息，注明初步诊断（尤其怀疑是百日咳时）。禁止冷藏标本，应将标本迅速送往实验室。

要点：

鼻咽部标本不能用来检测引起鼻窦感染的病原体。

鼻咽部标本培养主要用于诊断脑膜炎球菌携带者或百日咳病人。

不建议用鼻咽部拭子标本做常规细菌培养。

（2）咽喉标本 准备压舌板、含涤纶织物或藻酸钙拭子和运送培养基。

用压舌板压住舌头，观察喉后部和扁桃体区域（急性咽炎时病原体往往富集于这些部位），定位炎症和渗出物区域。

将拭子用力擦拭多个区域的渗出

物或扁桃体及喉后部。拭子取出口腔时不要碰及脸颊、牙齿、牙龈。将拭子放入装有培养基的运送容器内。

标记病人信息、采集时间。注明病人目前抗生素使用的情况。注明标本的检测要求，如培养、直接抗原检测或链球菌筛查。注明其他需要检测的病原菌，如淋病奈瑟菌。

标本应迅速送往实验室，如延迟超过1 h，需要冷藏标本。

要点：

通过咽拭子培养筛查链球菌，只报告有无以A群为代表的β溶血性链球菌。喉标本培养，可检测出β溶血性链球菌、嗜血杆菌和其他潜在的呼吸道病原菌，包括肺炎链球菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌等。

通常要报告β溶血性链球菌，该菌是急性细菌性喉炎的主要原因，但不需要做抗生素敏感试验。

有时临床需要检测嗜血杆菌属，虽然嗜血杆菌也是成人或小儿正常菌群的一部分。

喉标本也可检测淋病奈瑟菌，但实验室必须根据申请单的要求进行检测。

喉部标本病原菌一般不需常规做药物敏感性试验，但在筛查MRSA携带者时需做药物敏感性试验。

【需要特殊考虑的问题】

（1）小儿

1）鼻部标本　取鼻腔冲洗液时可将4 ml无菌生理盐水放入锥形橡皮球内，嘱患儿将头向后倾斜70°，把橡皮球插入鼻腔直至塞住鼻孔，挤出生理盐水。数分钟后重新吸出液体，置于无菌容器内迅速送往实验室。病毒标本容器应放于冰上。

2）鼻咽部标本　可将无菌抽吸导管连于标本盛放器，将导管末端插入鼻腔直至感觉遇到阻力(即到达鼻咽部)，将导管后退1～2 cm然后抽吸标本。

（2）特殊病原体

1）鲍特菌属　首选标本为鼻咽细胞或鼻咽后部的黏液标本。用含有藻酸钙或涤纶纤维的小头拭子采集标本。人造丝或棉拭子不能用，因为其所含的脂肪酸对菌体有毒害。百日咳鲍特菌对环境很敏感，需立即接种，最好是床旁接种，或将拭子标本放于特殊的运送培养基中送到实验室。如果在2 h内送到，可

用1%水解酪蛋白氨基酸作为保护剂。如果24 h内不能接种，就要用含活性炭的Ami培养基。如果运送时间超过24 h(例如标本需要送到参考实验室培养)，应该保存在Regan-Lowe(R-L)或Jones-Kindrick运送培养基中送检。

用于培养百日咳鲍特菌的培养基是R-L活性炭琼脂，含有10%的马血。此外，将标本接种于含有1/3琼脂的培养基表面，当此琼脂送到实验室后，再进一步分离培养，条件：35 ℃湿润环境，培养5~7 d，不需要CO_2。

PCR可能是检测百日咳鲍特菌最敏感的试验方法。首选涤纶拭子采集标本，因为棉花和藻酸盐拭子对PCR有干扰。关于百日咳鲍特菌检验标本的采集、运送和处理请参见有关内容。

2）白喉棒状杆菌　做白喉棒状杆菌培养时，最好同时送检鼻咽拭子和咽拭子。如果采集标本后立即送检，对运送培养基和运送条件没有特殊的要求。如果要将标本送到参考实验室去，建议将其放在不含干燥剂的容器中；也可以将标本放入Ami或Stuart运送培养基中，或者接种于Loeffler血清或亚碲酸盐琼脂培养基上，并在35℃、5%CO_2环境预培养过夜。标本涂片诊断白喉时，做革兰染色并检查多形性革兰阳性杆菌，为一端或两端膨大及有略带紫红色的异染颗粒。其他染色法所见菌体形态与革兰染色一致，但是不能区分白喉棒状杆菌和其他棒状杆菌。标本应该接种于Loeffler血清琼脂平板或含有亚碲酸钾的培养基，以分离、培养白喉棒状杆菌。培养条件：35℃，5%CO_2，培养2 d。

3）肺炎衣原体　诊断肺炎衣原体经常是做血清学试验；当要求做培养时，最好采用鼻咽拭子标本。培养操作已经在前面的下呼吸道标本中做了描述。

4）金黄色葡萄球菌　鉴别金黄色葡萄球菌携带者是用聚脂纤维的拭子在鼻前庭处采集鼻分泌物，将其放入试管运送系统并立即送往实验室。将标本接种于含5%羊血的琼脂平板、革兰阳性菌的选择性培养基或甘露醇盐琼脂上，也可用有助于区分凝固酶阳性与凝固酶阴性葡萄球菌的选择性培养基。培养条件：35℃，培养2 d。

5）脑膜炎奈瑟菌　鉴别脑膜炎奈瑟菌携带者时，采用鼻咽拭子标本并用Ami或Stuar运送培养基送到实验室。另外，还可以将标本直接接种在平板培养基上并放入含有CO_2的容器中送检。不用做革兰染色，因为脑膜炎奈瑟菌在

形态上不能与其他上呼吸道的普通奈瑟菌区别。标本应该接种在营养丰富的培养基如血琼脂或巧克力琼脂上,改良的TM、M-L或纽约培养基也可以用。培养条件:35℃,5%CO_2,培养72 h。

咽喉部

【采集方法】 咽拭子标本通常用于诊断A群链球菌咽炎。送检用作常规细菌培养的咽拭子标本只能从这点上评估和考虑。咽拭子标本应该插入含有改良Stuart培养基的试管中立即送检,如果不能及时送检,就应暂时短时冷藏。

有许多用于快速检测A群链球菌的商品试剂,可采用EIA、发光免疫法及以核酸为基础的试验。据报道,EIA的敏感性为60%~95%,但是也有低至30%的。发光免疫法的敏感性也不同,但是有些报道显示它的敏感性较EIA好些。总之,核酸试验的敏感率>90%。所有直接法的特异性一般都很高,为95%~100%。如要做快速直接试验时,应该采集2份咽拭子。如果结果阳性,则废弃余下的拭子;如果结果阴性,另一份拭子用作培养。培养A群链球菌,既可以用血琼脂,也可以用选择性血琼脂。使用选择性血琼脂便于观察,但是会延缓细菌的生长。应该在35℃、厌氧环境中培养48 h,或培养于5%~10%CO_2环境,或在空气环境中用盖玻片将初始培养物盖上。这些培养条件也可培养C群和G群链球菌,这些菌能引起咽炎,但不会引起A群链球菌的并发症。

【需要特殊考虑的问题】 咽拭子标本有助于确诊会厌炎的病原体,病程进展快的蜂窝织炎有可能引起气道阻塞(几乎总是由流感嗜血杆菌b型引起,偶尔也由金黄色葡萄球菌或肺炎链球菌引起)。如果有必要,应该立即在病人插管处采集标本。标本应接种于营养丰富的培养基,培养于35℃、含5%~10%CO_2环境中72 h。另外,还可以通过血培养确认会厌炎的病原体。

1. 白喉 咽喉标本的培养对于诊断白喉十分重要。用棉拭子擦拭鼻孔后部或咽后部,置于常规运送培养基中。对标本的直接评估以及培养应参照鼻咽部标本进行操作。

2. 淋病奈瑟菌 淋病奈瑟菌培养不属于常规检测项目,在申请单上应注明要求。咽喉标本革兰染色不能用于检测淋病奈瑟菌。该菌低温时易死亡。检测咽喉部淋病奈瑟菌时,拭子标本应床

旁接种或立即送检，并尽可能接种于选择性培养基如TM培养基。培养条件：35℃，5%～10%CO_2，培养72 h。

3. 奋森咽峡炎　它是一种急性坏死性溃疡性扁桃体炎，可以由梭杆菌属、奋森疏螺旋体及其他厌氧菌引起。这种情况通常出现在口腔卫生不好的成年人及患有严重系统性疾病的病人。实验室将从溃疡创面采集的拭子涂片做稀释石炭酸复红或革兰染色。显微镜下见许多螺旋体、梭状杆菌以及多形核白细胞就可初步诊断为奋森咽峡炎。做培养时不考虑需氧菌的培养，因为在口腔中有许多种厌氧菌；应该考虑做血培养，因为此疾病往往伴随有菌血症。

4. 喉炎　往往由病毒（如副流感病毒、呼吸道合胞病毒、流感病毒和腺病毒等）引起。检查病毒时可用棉拭子采集喉部或鼻洗液标本，并将拭子置于病毒运送培养基中送检。

5. 会厌炎　不建议做喉标本培养，接触红肿的会厌可能使之突然下降，从而完全堵塞呼吸道。可选择进行血培养。

6. 鼻窦炎　除去鼻腔污垢后，用针吸法从鼻窦中吸取标本。不要使用棉拭子。不推荐使用其他方法采集鼻窦标本。

（五）胃肠道标本

1. 胃窦活检标本检测幽门螺杆菌　十二指肠溃疡和部分胃溃疡多数是由幽门螺杆菌引起的，这是一种弯曲的、革兰染色阴性细菌。内镜活检取得的胃窦黏膜组织检测有较大的临床意义。取胃内吸出物培养寻找幽门螺杆菌，临床意义不大。在进行有创性组织活检之前可考虑先做酶联免疫筛选检测。

【准备材料】　纤维内镜装置及活检钳、带螺旋帽试管（内置1 ml无菌生理盐水）、4%甲醛溶液（常规病理检查所需）。

【采集方法】　病人术前适当使用镇静药物。嘱病人左侧斜卧位，润滑纤维内镜管后将其插入病人口中。在经过环咽肌时，嘱病人做吞咽动作，有利于内镜管进入食管。边用内镜观察边插入，插入胃内后保持胃小弯在内镜视野的上方。辨清角度，将内镜管插入胃窦。继续插入内镜，使之通过幽门直至十二指肠球部。十二指肠探查完毕后取4块活检标本（用于不同检测方法），退出内镜管。活检标本置于培养基或快速筛选

试验用生理盐水中，病理检查需置于4%甲醛溶液内。

【标记】 记录病人信息及标本来源，如“胃窦活检组织以检测幽门螺杆菌”。记录活检时间。

【运送】 迅速将标本送往实验室进行快速脲酶检测。实际上该试验在内镜室即可进行。如果标本放置需超过1 h，可冷冻标本。

要点：

1. 研磨组织标本以释放更多的病原体，进行革兰染色和培养，观察是否与快速筛检结果一致。

2. 有些细菌也能耐受胃内酸性环境，如果放置超过1 h，脲酶试验中可能会产生尿素反应假阳性结果，因此需进行革兰染色和培养以进一步证实。

2. 胶带法收集蛲虫标本　蛲虫通过直肠在肛周（肛门或肛门周围）皮肤排卵。蛲虫常在夜间病人熟睡时周期性地排卵。采集标本最好在早晨沐浴前。

【准备材料】 有专用的标本收集装置出售，也可用以下材料采集：2～2.5 cm宽的透明纤维胶带、显微镜载玻片（2.5 cm × 7.5 cm）、压舌板。

【采集方法】 先将一段长8～9 cm胶带中的0.5 cm部分粘于载波片一端，再把胶带覆盖至载玻片（涂胶部贴于载玻片）距另一端1 cm处，胶带末端留小部分不粘贴在载玻片上，作为拉手。将玻片靠在压舌板上，抓住拉手将胶带大部分从载玻片上拉起。裹住压舌板并将胶带粘胶面暴露在外面，压舌板和载玻片靠紧。分开病人臀部并将胶带粘胶面贴于肛周数处。把胶带重新贴于载玻片上，用纱布或棉花压平载玻片上的胶带。

【标记】 标记病人信息。注明收集时间和病人年龄。

【运送】 采集后即冷藏，尽快运送至实验室。

要点：

1. 如暴露于热环境中，蛲虫幼虫会很快死亡。

2. 在晚上10点至午夜或凌晨采集可以提高检出率。

3. 需要采集多份样品。

4. 蛲虫卵传染性很强，要求无菌操作，采集标本后不要碰触胶带涂胶处一侧。

3. 直肠、肛门拭子标本　多数情况下检测引起腹泻的病原菌一般用粪便标本做培养，而不用拭子标本。直肠拭子培养仅用于婴幼儿或急性腹泻的病人。如果用拭子标本培养，拭子必须粘有粪便。肛门拭子一般不用于腹泻病原菌的培养检测。常规培养检测沙门菌、志贺菌和弯曲菌，如需做其他病原菌检测，可向实验室咨询。

【准备材料】　拭子、运送培养基。

【采集方法】　将拭子轻插到肛门括约肌外，旋转后取出并接种到运送培养基中。拭子上应该能看到粪便。要求做淋病奈瑟菌培养时拭子应在肛环内的肛门陷凹处取样，尽量避免受粪便污染，拭子应立即放入运送培养基或在床边接种至特殊的淋球菌培养基。

【标记】　标记病人信息，指出需要检测的病原菌，尤其是淋病奈瑟菌。注明采集时间。

【运送】　淋病奈瑟菌的待检标本不能冷藏，尽可能在采集后30 min内送往实验室。常规培养如果预计将延误6 h以上，应接种在运送培养基中冷藏。

要点：

1. 用于诊断腹泻的标本最好是粪便而不是拭子。

2. 淋病奈瑟菌的生存要求苛刻，在冷藏、没有碳源或合适的培养基时都会死亡。

3. 如果需检出大肠埃希菌O157：H7、耶尔森菌、弧菌和气单胞菌等，应通知实验室。

4. 不推荐直肠拭子用于检测艰难梭状芽胞杆菌。

4. 乙状结肠镜标本检测阿米巴病　寄生虫粪检阴性但怀疑阿米巴感染时常进行乙状结肠镜检查。乙状结肠镜检查前不能进行导泻、灌肠或钡餐。如果必须做导泻，应在2～3 h后再做乙状结肠镜检查。直接从小肠黏膜采集标本，因为阿米巴易于在小肠黏膜上吸附、聚集。

【准备材料】　带橡皮球的吸管、刮匙、内镜或乙状结肠镜。

【采集方法】　用已润滑过的乙状

结肠镜轻插入直肠。将乙状结肠镜移到乙状结肠中的病变处。用吸管从病变部位或结肠黏膜表面取样，用刮匙在结肠壁可疑部位刮取标本。标本放置于无菌培养基中并立即送往实验室。

【标记】 标记病人信息。注明准确的标本来源，如"乙状结肠病变部位"或"乙状结肠镜镜采集的标本"。注明是否要做隐血试验或其他检测。

【运送】 必须立即运送。禁止冷藏标本。

要点：

1. 除非注明有其他检测要求，标本仅用作阿米巴检测。

2. 尽可能多采集标本并防止干燥。立即送检能提高检出率。

3. 需检测3份粪便标本才能确诊。

5. 粪便培养或寄生虫检查　在急性期留取腹泻粪便标本。拭子一般仅建议用于婴儿。如果用直肠拭子做细菌培养，必须取到粪便。检测细菌需要连续3 d，每天采集3次标本。寄生虫检查要求间隔1 d或2 d采集1次，连续采集3次。需要连续3次培养阴性才能排除病人的携带状态。避免在服用硫酸钡、油、镁或结晶物后立即采集标本；如服用过这些物品，至少在5 d后再采集标本。

【准备材料】 对于细菌培养或快速寄生虫检测标本，容器要求用有防护盖的洁净蜡纸杯或其他类似的容器。容器不要太小，否则病人很难提供充足的标本。其他还需要拭子（适用于急性发病或粪便标本很难获得的病人）、寄生虫转运包（内置2个固定剂瓶，一个放4%甲醛，另一个放乙醇）或类似运送系统。

【采集方法】 嘱病人直接排泄于收集容器或从床上便盆、塑料裹巾或纸上收集10～20 g粪便放入容器。不能从厕所便器水中获取标本，也不能让尿液污染标本。将盖子盖紧，冷藏标本。进行寄生虫检测时，应在粪便还温暖时立即按上述方法采集并直接送往实验室。如果延迟，将标本放置于2个装有固定剂的容器中。

【标记】 标记病人信息。注明要求做何种检查，如常规培养、寄生虫卵或寄生虫，以及其他特殊检查等。注明采集时间和日期。注明病人的特殊病史（旅行、其他患病的家族成员等）。对同一病人收集连续标本时应标记清楚。

【运送】 细菌培养检测如需延迟运送时需冷藏标本。用于检测艰难梭状芽胞杆菌的标本，如预计延迟>48 h，需要冷藏标本，在4℃条件下运送。检测寄生虫时应提供新鲜标本。检测细菌的标本如预计延迟2～3 h，可置于Cary-Blair运送培养基中。

要点：

1. 当怀疑沙门菌、志贺菌、弯曲菌以外的细菌引起腹泻时，临床医生必须通知实验室，因为检测分离弧菌、鼠疫耶尔森菌、气单胞菌属或大肠埃希菌O157:H7需要特殊的实验程序。

2. 弯曲菌不需要常规做药物敏感性试验。

3. 粪便标本一般不做厌氧培养。

4. 运送胆汁、结肠造口术和回肠造口术标本的方法同其他粪便标本。

（六）尿标本

尿液通常是无菌的或一过性有少量微生物，但是尿道内或尿道周围皮肤的菌群会污染尿液标本，从而可能导致错误的培养结果。对于症状明显（如尿急、尿频、尿痛）的病人，一份标本就已足够，治疗48～72 h后再采集第二份标本。对于症状不明显的病人，需采集2～3份标本。怀疑肾结核时，应连续3 d采集晨尿。多次收集或24 h尿不能用作培养。在申请单上必须注明病人症状是否明显，这对于定量培养分析非常重要，尤其对仅有少量尿液标本的病人。室温有利于病原菌和污染菌的生长繁殖，因此若30 min内不能及时培养尿液，则必须冷藏，且不能超过24 h。

1. 导尿管尿液　插入导尿管采集尿液标本可能将尿道口细菌带入膀胱，因而有引起菌尿症的危险。尿袋内的尿液不能用作培养。导尿管末端的尿液也不能用于培养，因为很难避免尿道菌群污染。除非是流行病学调查，长期留置导尿管的病人常规尿液培养没有临床意义，常可在这类标本中检出大量的病原菌。留置导尿管尿液标本常通过专门的采样端口采集。

【准备材料】 21号针头和注射器、酒精拭子。

【采集方法】 夹住导尿管，但注意不能超过30 min。用酒精拭子消毒采

样端口。将注射器针头插入采样端口，抽吸出尿液。将尿液置于无菌杯或试管中。

【标记】 标记病人信息。在申请单上注明尿液采自留置导尿管。

【运送】 如果30 min内不能送往实验室，需将标本冷藏。如果实验室没有接收人员，不能及时接种时，可将标本置于实验室冰箱内。

如为小儿，经耻骨上穿刺能尽量避免污染，但对膀胱内尿量少的小儿难以实施。导尿时，应用小号的导尿管，润滑后轻轻插入尿道直至到达膀胱并流出尿液，弃去1 ml开始流出的尿液。尽管如此，在一些尿液标本中受污染情况仍很严重。

要点：

1. 禁止把导尿管与尿袋拔开后收集尿液，也不能将尿袋内的尿液用于培养。

2. 在留置导尿48～72 h后常有多种病原菌定植。

3. 必须让实验室知道标本以何种方法采集。

2. 清洁中段尿 要求尽量取早晨第一次尿液，弃去开始流出的尿液，以冲刷尿道口的细菌，取能代表膀胱部位病原菌的中段尿。

【准备材料】 无菌带有螺旋帽的杯子、消毒肥皂液、纱布或海绵、清洗液。

【采集方法】

（1）女性病人 取舒适位坐于马桶上并向一侧尽量伸展自己的膝部。收集标本前用清洗液从前向后仔细擦洗生殖器部位。用手指握着杯子外面，但不要触及杯子边缘。舍弃开始小部分尿液，取后面的尿液，充满杯子的一半。小心旋紧杯子的盖子。

（2）男性病人 采集前退回包皮并清洗龟头。按“女性病人”的步骤收集标本。

【标记】 标记病人信息。注明病人症状是否明显及抗生素使用情况。

【运送】 检查杯盖是否旋紧，防止泄漏。若30 min内不能送到实验室，可先冷藏标本。

3岁以上儿童按成人采集的方法都可以成功取样，外尿道的仔细清洗同样重要。对婴儿，清洗后应立即将一无菌塑料袋覆盖于会阴部以回收下次排尿的尿液，以这种方法收集的尿液必须在

30 min 内送往实验室。尿布上的标本不能用于培养。

3. 膀胱内镜标本　用双侧尿道导管插入术采集标本。将内镜插到膀胱，打开引流装置收集膀胱内尿液，并标记"CB"(经导管膀胱尿)，冷藏。用 2 ~ 3 L 的无菌灌洗液冲洗膀胱。待膀胱排空后，通过膀胱内镜插入 5 号聚乙烯尿管到达膀胱。注入 100 ml 的灌洗液。关闭内镜开关，从输尿管引流出灌洗液，收集标本用于培养，并注明"WB"(膀胱灌洗液)。将两侧导尿管延伸到两侧输尿管的中部或上部。弃去开始的 5 ~ 10 ml 尿液，然后从每个输尿管收集 5 ~ 10 ml 尿液于无菌试管中，并注明"LK"(左肾)、"RK"(右肾)和"1"、"2"或"3"(表明收集的前后次序)。冷藏标本，将所有标本送往实验室培养。

4. 耻骨上穿刺吸取尿液　此种方法可避免尿道或会阴细菌的污染，常用于患儿、泌尿道厌氧菌感染或脊柱损伤病人等。

【准备材料】　皮肤消毒用品、局部麻醉药、22号针头和注射器、无菌容器。

【采集方法】　消毒脐以下至尿道之间区域的皮肤，局部麻醉穿刺点部位。在耻骨联合与脐连线上高于耻骨联合 2 cm 处进针刺入膀胱。吸取 20 ml 尿液，置于无菌带螺旋帽的尿杯中并送往实验室。

【标记】　标记病人信息和年龄。注明标本为穿刺获取。注明是否要求厌氧检测。注明采集时间。

【运送】　如果 30 min 内不能送往实验室，必须冷藏标本。如实验室无人接收，请放于实验室冰箱内。

5. 膀胱冲洗尿液标本　膀胱冲洗液虽然很少用，但有助于鉴别膀胱感染还是肾脏感染。通过导尿管冲洗膀胱以清除细菌，然后从导尿管获得标本并做定量培养。冲洗后的尿液标本代表来自肾脏且没有受膀胱内细菌的污染。如果病变累及肾脏，膀胱冲洗液后的尿液仍可找到大量的微生物；但如果仅是膀胱感染，则不应检出细菌。

【采集方法】　将一根留置导尿管插入膀胱。收集最后部分的尿液用于培养，立即冷藏。注入 0.1% ~ 0.2% 新霉素，也有在溶液中加入胰肽酶(牛血清溶纤维蛋白酶和脱氧核糖核酸酶的混合物)并将溶液留置于膀胱内 30 min。用 2 L 灌洗液冲洗膀胱后排空。采集 3 次冲洗后的尿液，每次间隔 10 min。标记每次的采集时间。

6. 回肠造口导管尿液标本　回肠造口导管是指在膀胱全切除等情况后移植一段回肠作为人工膀胱，并将输尿管与人工膀胱相连。该人工膀胱近端封闭，远端开口于皮肤，尿液集中在人工膀胱中。

【采集方法】　摘除导管，弃去里面的尿液（不适合用于培养）。用蘸有乙醇或碘液的拭子消毒导管皮肤开口处。按无菌操作要求，将 14 号（亦可用 10 或 12 号）无菌 Robnel 导管插入回肠造口中。抽吸尿液，收集于一无菌容器内，立即送往实验室或冷藏。

（七）生殖道标本

因为生殖道常存在大量正常菌群，因此应特别注意标本挑选和采集方法。不建议进行常规检查，因为存在的正常菌群常使结果很难解释。厌氧培养仅限于特定的标本，如胎盘（剖宫产术取得）、子宫内膜、后穹窿穿刺术、输卵管、子宫颈吸出物、卵巢和前庭大腺等标本。许多女性生殖系统感染局限于特定部位，如外阴、阴道、子宫颈及上尿道等。淋病奈瑟菌和沙眼衣原体感染常同时发生，建议每一份淋病奈瑟菌检测标本同时应做衣原体检测。实验室可采用直接镜检、酶免疫测定、细胞培养或 DNA 探针检测沙眼衣原体。

1. 宫颈内标本　阴道分泌物会污染宫颈内取出的标本，影响淋病奈瑟菌的检测。因此，宫颈内采集标本必须借助宫颈窥器。

【准备材料】　宫颈窥器、拭子、运送培养基、温水。

【采集方法】　用温水润湿宫颈内镜；不能用润滑剂，因对奈瑟菌可能有毒害作用。查看子宫颈，拭去宫颈管内的黏液或阴道内容物。用窥器轻压子宫颈，用含草酸钙的涤纶拭子收集从子宫颈流出的物质；也可以将拭子插在子宫颈管内，放置数秒后取出。如怀疑是淋病奈瑟菌感染，应同时另外采集一份肛门标本做培养。将拭子插入肛门 2.5 cm，正好进入肛环，旋转、擦拭后取出（拭子上不能有排泄物）。

【标记】　标记病人信息和初步诊断。标明标本采集时间和来源。

【运送】　用于淋病奈瑟菌培养的标本必须迅速置于 CO_2 环境中培养。最好床边直接接种于特殊的培养基，或置于运送培养基迅速送往实验室。拭子上淋病奈瑟菌最多只能存活 6 h，过长则

会死亡。禁止冷藏标本。

要点：

1. 由于可能受其他形态相似的细菌干扰，革兰染色不能有效地检测阴道和子宫颈标本中的淋病奈瑟菌。

2. 只有成人才能采集宫颈内标本检测淋病奈瑟菌。

2. 生殖道疱疹涂片　可以选择从水疱液和病灶基底部取材，亦可采用子宫颈内和阴道壁标本。

【准备材料】　病毒转运系统、拭子（不适合用含草酸钙的拭子）、结核菌素注射器、26 号针头、解剖刀片（用于刮除病灶表面）。

【采集方法】

（1）水疱　直接用无菌注射器从水疱中抽取内容物，或用拭子从病灶基底部收集标本。

（2）子宫颈　将拭子插入子宫颈内并轻轻地旋转几圈。

（3）阴道　用拭子收集阴道壁标本。

【标记】　标记病人信息和采集时间。注明检测疱疹病毒。

【运送】　要求冷藏，但不能冷冻标本。将拭子插入病毒运送培养基（不能用细菌运送培养基）再送往实验室。

要点：

1. 尽可能防止细菌污染。

2. 运送时标本保持冷藏温度，不能冷冻或放置于室温。可将盛标本的容器浸没于冰水中，因为冷冻和解冻标本可能损害病毒，从而影响检出率。

3. 尿道（男性生殖器）标本　男性生殖器标本常从尿道采取。采集标本前先消毒尿道外口。用拭子插入尿道内 2 cm 处或将脓液挤出尿道口后采集标本。

【准备材料】　拭子、载玻片、运送培养基。

【采集方法】　从尿道挤出渗出物，收集于拭子上并置于运送培养基中。用另一拭子收集余下的渗出液制作涂片，以备染色。在涂片表面滚动 2 ~ 3 cm，并在同侧标记。如果不能挤出渗出液，将泌尿生殖道拭子插入尿道内约 2 cm，轻轻旋转后取出。尽快将标本接种于运送

培养基中，置于 CO_2、35℃环境中。将接种后的拭子制作一张涂片以备染色。如能够同时采集2个拭子，则一个用于培养，另一个用于涂片。

【标记】 标记病人信息、采集时间。注明初步诊断。

【运送】 禁止冷藏，并将标本尽快送往实验室。

要点：

1．男性淋病常可通过尿道渗出液革兰染色确诊。对女性而言，仅凭阴道或子宫分泌物涂片革兰染色常不足以确诊，因为一些阴道非致病菌也可表现为淋病奈瑟菌的双球菌形态。

2．淋病奈瑟菌对营养和环境要求高，在低温和缺少 CO_2 的环境中不能生存。

3．检测淋病奈瑟菌的同时应考虑检测衣原体，因为尿道炎的病人常可检出衣原体。

4．严格选择拭子的类型，检查包装，与实验室联系决定是否使用含藻酸钙的涤纶拭子。

4．其他生殖道标本

（1）前庭大腺 前庭大腺囊肿的脓液可通过直接用手指触压或注射器吸取。

（2）子宫内膜 最好用抽吸装置获取标本，不用拭子采取，因为易被子宫和阴道正常菌群污染。

（3）盆腔感染 以后穹窿穿刺术获取标本。输卵管和卵巢标本可以外科方法获取。

（4）怀疑梅毒感染 应在外阴病变部位仔细用干纱布擦拭梅毒病灶，直到出现浆液性液体（避免出血以影响暗视野镜检）。采集液体滴于干净的载玻片上，立即检查有无活动的梅毒螺旋体。

（5）子宫内避孕器 以外科手法取出装置，避免子宫或阴道固有菌群的污染。将整个装置包括渗出液置于无菌容器中送往实验室。

（6）衣原体感染 不要采集阴道分泌物，因为衣原体在阴道扁平上皮细胞中不能生长，故不引起阴道炎。衣原体可寄生于子宫柱状上皮细胞内，应在子宫颈内部位轻轻刮取细胞和分泌物，直接接种于衣原体运送培养基或做涂片染色。

（7）女性 B 群链球菌感染　建议用阴道口或肛门直肠拭子取一两份标本检测女性B群链球菌，置于细菌运送培养基中送检。

（8）前列腺液（包括精液）标本　可通过前列腺按摩取得。

（9）小儿标本　用含藻酸钙的拭子采集儿童生殖道标本，通常是用来证实是否受到性虐待或诊断初潮前外阴阴道炎或尿道炎。由于这些标本很难重复采集，应尽可能做培养。对于女孩来说，性传播疾病的病变累及阴道多于子宫颈。

（八）伤口标本

仅以“伤口”来描述标本来源是不够的，还应注明采集标本的解剖部位。必须区分表面伤口、深部伤口或外科手术切口，厌氧菌培养应从深部伤口采集标本。采集伤口标本时皮肤消毒非常重要。可通过革兰染色评价伤口标本的质量，如出现上皮细胞提示标本已受皮肤菌群的污染，使培养结果毫无意义。100×高倍视野中超过5个鳞状上皮细胞的伤口标本不适合做厌氧培养。有代表性的伤口标本应采自病灶活动区域而不仅仅是脓或渗出物。采集时应用力擦拭病灶边缘或脓腔囊壁，但厌氧培养时应吸取深部标本而不能用拭子擦拭表面，同时切记要使用厌氧运送培养基。

1. 耳（中耳炎）标本　诊断中耳炎时不能用拭子采集标本，因为易被外耳道细菌污染。最好采集鼓膜后的吸取物，因内耳分泌液能代表感染过程。当鼓膜破裂、有液体流出时可使用小拭子采集标本。鼓膜穿刺术很痛，仅对患儿及治疗无效的慢性中耳炎病人实施。

【准备材料】　鼓膜切开手术包（包括注射器、针头、麻醉用品）、耳窥器、耳镊子、拭子和消毒剂。

【采集方法】（鼓膜穿刺术）　用消毒溶液清洗外耳道。切开鼓膜，用引流管收集尽可能多的液体，也可将1 ml结核菌素注射器上的22号针头弯曲30°角后刺入鼓膜吸取液体。收集时为防止外耳道细菌污染，可使用耳窥器。将引流管或注射器收集的标本注入厌氧运送培养基上，或直接封闭注射器针头后送检。

【标记】　不要仅标记“耳”，如果采集到液体，应记录“鼓膜穿刺液”。标记病人信息，以及病人年龄和相关病史

（如"慢性中耳炎，治疗无效"）。注明是否要做厌氧培养。

【运送】 标本禁止冷藏，应放置于室温，迅速送往实验室。厌氧培养要求按厌氧采集方法操作和运送。

要点：

1. 采取内耳标本之前应将外耳道消毒并用生理盐水冲洗。用拭子将病灶部位表面擦拭干净后再取样。

2. 学龄前儿童中耳炎很常见，鼓膜穿刺术是适用于儿童的一种方法。

2. 眼标本 标本来源应明确，如眼睑、结膜、角膜、房水和玻璃体标本，并注明左眼还是右眼。在发生严重的眼部感染如化脓性角膜炎和眼内炎时，临床医生在采样前应与微生物专家联系，以使用正确的培养基和运送系统。结膜标本最好取双眼、双份，每眼取一份用于培养，一份做革兰染色。

【准备材料】 无菌眼科刮刀、载玻片、记号笔、无菌藻酸钙拭子（每包2支）、无菌棉拭子（每包2支）、注射器、乙醇、0.5%丁卡因（不含防腐剂）。

【采集方法】

（1）结膜 分别用2个拭子从双眼采样（预先要用无菌盐水湿润）。即使只有一只眼睛结膜感染，也要取2只眼睛的结膜标本，以排除原有菌群的干扰。如果怀疑为淋菌性新生儿眼炎，采用无菌藻酸钙拭子取样。拭子需在结膜上滚动采样，并在床旁直接接种于血平板和巧克力平板上，或将拭子插入运送培养基中。用余下的标本涂在2张干净的载玻片上用于染色。

（2）角膜 同"结膜"的方法获取拭子标本。或滴2滴麻醉剂进行局部麻醉，用无菌刮刀在溃疡或病灶部位刮取样本，直接接种在BHI（加10%的羊血）、巧克力平板和含真菌抑制剂的琼脂上，用余下的标本涂在2张干净的载玻片上用于染色。

（3）液体和抽吸物 消毒、清洗眼部，为抽取液体做准备工作。用无菌针管抽取液体，直接接种少量液体在培养基上（包括真菌培养基），或注入带螺帽的无菌试管中。

【标记】 标记病人信息。注明诊断。标记标本来自左眼还是右眼。

【运送】 尽快送检，避免量少的标本干掉而降低检出率。可用厌氧运送系

统,但结膜标本不做厌氧培养。其他标本放置于室温,15 min 内接种。病毒标本接种于病毒运送培养基上,冷藏运送。

要点:

1. 即使只有一个结膜感染也要取 2 只眼睛结膜的标本,以排除原有菌群的干扰。

2. 用拭子采集标本最好在使用麻醉剂之前,而刮取角膜样本可以在麻醉之后。麻醉剂对有些病原体有抑制作用。

3. 皮肤组织标本(损伤、脓肿、烧伤、渗出液)　对大多数开放伤口,采集前应先清创,去除表面菌群。除非有渗出物,干燥、结痂伤口一般不做培养。闭合脓肿应取穿刺物和脓肿壁标本。开放脓肿处理同开放伤口。烧伤伤口应在广泛清洗和清创术后采集标本。建议取组织标本,伤口表面定量培养不一定有意义。有代表性的标本应采自病灶活动区域或基底部,而不仅仅是脓液。

【准备材料】　皮肤消毒剂、无菌拭子、注射器、针头、厌氧和需氧运送培养基。

【采集方法】

(1) 未破裂脓肿　不能用拭子。消毒脓肿表面的皮肤,用注射器将脓肿内容物吸出。然后切开脓肿,引流,取部分脓肿壁送检。送检时标本都置于厌氧运送培养基中。

(2) 开放病灶和脓肿　清洁、消毒皮肤,尽量去除表面正常菌群。用拭子采集病灶及底部或边缘的标本,置于需氧运送培养基中。也可对渗出液做需氧培养。开放病灶不能做厌氧培养。

(3) 烧伤伤口　清创,出现渗出液后以拭子用力采集,仅做需氧培养。也可送检组织标本。

(4) 脓疱或水疱　乙醇消毒、干燥,用针头(小儿用 23 号针头)挑破脓疱,用拭子采集脓疱液和基底细胞标本。

【标记】　不要只写"伤口",应有专门的描述和解剖来源。标记病人信息。注明渗出液来自开放伤口还是闭合伤口。注明需氧还是厌氧培养:①仅做需氧培养时,用需氧培养基运送。适用于表浅病灶渗出液、开放伤口渗出液、撕裂伤口渗出液、开放脓肿渗出液。②需同时做厌氧和需氧培养时,要求用厌氧培养基运送。适用于外科吸取物、闭合

脓肿吸取物、活检组织。

【运送】 标本应迅速送往实验室。如果在 1 h 内不能培养，应将标本冷藏。

要点：

1. **皮肤消毒对培养结果至关重要。**

2. **先做革兰染色，对标本进行评估。涂片中如出现上皮细胞，提示标本已被污染。没有上皮细胞而有白细胞，说明标本采集正确。**

3. **不要仅送检脓液，应在病灶活动区域或基底部采集标本，最好是组织标本。**